نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱، ص. ۳۵۲-۳۴۹

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 8, No. 4, Winter 2013, p. 349-352

بررسی تأثیرفصل برداشت و شرایط دم آوری بر میزان کل ترکیبات فنولیک چای سبز ایرانی

رضا نصیری راد[۱]- محمدحسین حداد خداپرست[۲*]- امیرحسین الهامی راد[۳]- شیوا روفیگری حقیقت[۴]

تاریخ دریافت:۱۳۸۷/۵/۲۰
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۲/۱۷

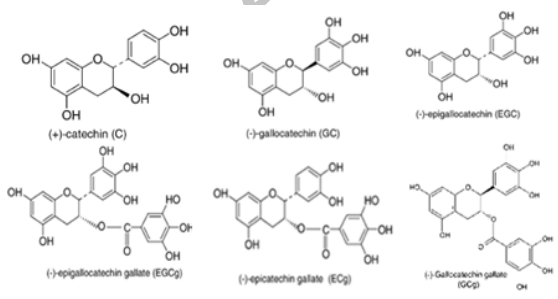
چکیده

چای سبز از برگهای گیاه کاملیا سیننزیس[۵] تهیه می شود. کاتچین های چای سبز به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی شناخته می شوند و دارای اثرات مفیدی در بدن می باشند. یکی از مراحل مهم در استخراج کاتچین ها و تهیه نوشیدنی چای سبز مرحله دم آوری آن است. هدف از انجام این مطالعه مشخص کردن اثر دمای دم آوری (۸۰°C و۷۰ ،۶۰) و زمان دم آوری (۱۵ و۱۰ ، ۵ دقیقه) همچنین تاثیر فصل برداشت برگ سبز بر میزان کل ترکیبات فنولیک چای سبز تهیه شده در مرکز تحقیقات چای لاهیجان می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار کل پلی فنول به روش فولین سیو کالتو فنول بر روی چای سبز دم آوری شده نشان داد که نمونه حاصل از برداشت در فصل تابستان و بهار نسبت به نمونه حاصل از برداشت در فصل پاییز ترکیبات پلی فنول بیشتری را دارا هستند همچنین عصاره چای سبز دم آوری شده در زمان ۱۵ دقیقه دارای بیشترین مقدار پلی فنول می باشد و اثر دمای دم آوری در میزان کل پلی فنول معنی دار نبود.

واژه های کلیدی: چای سبز، ترکیبات فنولیک، دم آوری

مقدمه

چای بعد از آب پرطرفدارترین نوشیدنی در جهان می باشد (Wang *et al*., 2000). در گذشته مطالعات وسیعی در رابطه با چای وترکیبات فلاونوئید آن انجام گرفته است. فلاونوئیدها حاصل از متابولسیم ثانویه گیاهان می باشند که به طور گسترده ای در قلمرو گیاهان یافت می شوند. فلاونوئید ها را می توان بر اساس ساختار و موقعیت حلقه هتروسیکلیک اکسیژن به شش گروه فلاون ها، فلاوانون ها، ایزوفلاون ها ،فلاونول ها، فلاوانول ها و آنتو سیانین ها تقسیم بندی نمود. مهمترین فلاونوئید موجود در چای فلاونول یا به طور دقیق تر کاتچین ها می باشند (Labbe *et al*., 2006). کاتچین ها آنتی اکسیدانند و دارای اثرات مفیدی در بدن می باشن د (2001 ,.Hara) (+)کاتچین (C) ،(−) اپی کاتچین (EC)، (−) اپی گالوکاتچین (EGC)، (−) اپی کاتچین- گالات (ECG)، (−) اپی گالو کاتچین گالات (EGCG) و (−) گالوکاتچین گالات (GCG) شش کاتچین موجود در چای هستند (شکل ۱-۱) که برخی از ویژگی های چای مانند خاصیت آنتی اکسیدانی (et al.,2007& Hara., 2001 Banon)، ضد میکروبی (۵ و Hara., 2001)، ضد سرطانی (Hara., 2001 و ۱۴) و ضد جهش زایی (Hara., 2001) را مربوط به آنها می دانند.



شکل ۱- فرمول ساختاری کاتچین ها

۱و۳- کارشناس ارشد و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: Rezanasiryrad@yahoo.com)
۴- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات چای کشور،لاهیجان

5- Camellia sinensis

Archive of SID
www.SID.ir

کاتچین ها بیش از ۳۰درصد ماده خشک چای را شامل می شوند (Hara., 2001). میزان کاتچین ها در برگ چای ثابت نیست و از فصلی به فصل دیگر متفاوت است (Kumamoto *et al*., 1998) استخراج کاتچین ها از چای و ورود آن به فاز محلول مستلزم دم آوری چای می باشد. نحوه دم آوری چای در کشور های مختلف، متفاوت است (Bazinet *et al*., 2007) از هزاران سال پیش چای سبز در چین مورد مصرف قرار می گرفت چینی ها برای تهیه نوشیدنی چای سبز در حدود ۳ گرم چای را در ۱۵۰ میلی لیتر آب با دمای ۷۰-۸۰°c دم می آوردند (Lin., 2004). در گذشته محققان وابستگی مقدار ترکیبات فنولیک و ظرفیت آنتی اکسیدانی چای سبز به شرایط استخراج ونوع حلال به کار رفته را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بازده استخراج پلی فنول ها به مقدار زیادی به زمان استخراج و حلال به کار رفته بستگی دارد (Rusak *et al*., 2006). همچنین وابستگی مقدار کاتچین های موجود در عصاره به دمای دم آوری به اثبات رسیده است (Labbe *et al*., 2006). با این وجود روش دم آوریی مناسب تلقی می شود که بوسیله آن بیشترین ترکیبات مفید موجود در چای (کاتچین ها) استخراج شود (Labbe *et al*., 2006) همچنین عصاره حاصل بالاترین رتبه از لحاظ مقبولیت مصرف کننده را دارا باشد (hand book of tea tree physiology and tea leaves biochemistry.,1983). در این تحقیق سعی شده است دما و زمان مناسب دم آوری چای سبز ایرانی تهیه شده در فصول مختلف سال به نحوی تعیین گردد که عصاره حاصل از دم آوری از لحاظ مقدار کل پلی فنول ها دارای بهترین شرایط باشد.

مواد و روش ها

ماده اولیه

برگ سبز چای مورد استفاده در این تحقیق در طی فصل زراعی۱۳۸۶ از ایستگاه تحقیقاتی چای شهید اسلامی وابسته به مرکز تحقیقات چای واقع در شهرستان لاهیجان تهیه شد. در این تحقیق از رقم هیبرید چینی بومی منطقه استفاده شد. برداشت برگ سبز به صورت دستی و درطی سه فصل رشد، در فصل بهار (خرداد ماه)در فصل تابستان (مرداد ماه)و در فصل پاییز (مهر ماه) به صورت استاندارد یعنی یک غنچه و دو برگ انجام گرفت. برگهای سبز چای پس از برداشت در کوتاه ترین زمان (کم تر از ۲ ساعت) به آزمایشگاه چایسازی کارخانه تحقیقاتی کاشف منتقل شد. غیر فعال سازی آنزیم های موجود در برگهای چای به روش آنزیم بری با بخار انجام گرفت برای این منظور برگها به مدت ۲ دقیقه در معرض بخار ۹۸±۲ °c قرار گرفته و فعالیت آنزیم های موجود در آن متوقف شد. سپس برگ ها توسط دستگاه به مدت ۱۵ دقیقه مالش داده شده و به منظور کاهش رطوبت به مدت ۲۰ دقیقه در آون با دمای ۱۱۰°c قرار داده شدند. برای رسیدن به رطوبت نهایی (حدود ۴ درصد) و همچنین کیفیت بهتر عمل مالش و خشک کردن تا ۲ بار تکرار شد. معرف فولین سیو کالتو فنول و کربنات سدیم جهت آزمایش با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان تهیه گردید .اسید گالیک انهیدروس از شرکت Sigma Aldrichتهیه شد.

روش کار

اندازه گیری مقدار کل پلی فنول ها به روش رنگ سنجی با استفاده از معرف فولین سیوکالتو فنول[1] بر طبق روش ISO/FDIS 14502-1انجام گرفت. بر طبق این روش، چای سبز تهیه شده به منظور کاهش اندازه ذرات و یکنواختی بیشتر در میکسر خرد شدند ، سپس ۰/۲ گرم از نمونه های چای با ۵ میلی لیتر آب مقطر با دمای محیط مخلوط شد بر روی نمونه ها در بن ماری در دما ها (۶۰، ۷۰و۸۰°c) و زمان های مختلف(۱۵ و۱۰ ، ۵ دقیقه) دم آوری صورت گرفت وپس از آن تا دمای محیط خنک شدند، نمونه ها صاف شد و تا رقت ۰/۰۱ با آب مقطر رقیق شدند. در ادامه ۱ میلی لیتر از نمونه های رقیق شده با ۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو فنول ۱۰٪ (کسر حجمی) مخلوط و حداقل به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد. ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۷/۵ ٪ (غلظت وزنی) به لوله های حاوی نمونه ها اضافه شد و مخلوط کردن انجام گرفت. برای نمونه شاهد به جای نمونه از ۱میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. در نهایت لوله ها درب گذاری شده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند پس از آن نمونه ها در داخل سِل ریخته شده و جذب همزمان آنها در طول موج۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (ISO/FDIS 14502-1., 2004). برای رسم منحنی استاندارد از محلول استاندارد اسید گالیک انهیدروس استفاده شد.

طرح آماری

طرح آماری مورد استفاده در این بررسی ،آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بود. فاکتور های مورد بررسی عبارتند از زمان برداشت برگ سبز چای در سه سطح (بهار، تابستان و پاییز)، دما در سه سطح (۶۰، ۷۰و۸۰°c) و زمان دم آوری در سه سطح (۱۵ و۱۰ ، ۵ دقیقه). تجزیه واریانس طرح با استفاده از نرم افزار آماری SAS 9.1 انجام و کلیه میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح اختلاف معنی دار شده در آزمون تجزیه واریانس انجام شد. کلیه نمودار ها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel رسم گردید.

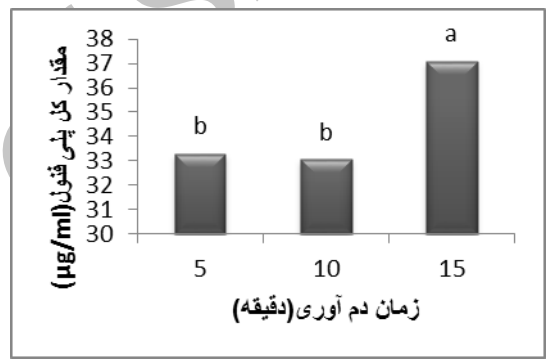
1- Folin- ciocalteu phenol reagent

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

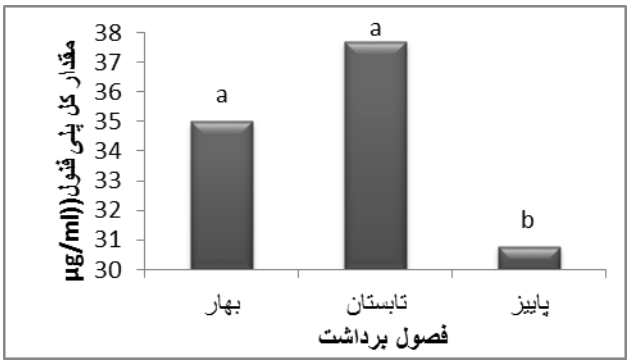
براساس نتایج حاصل ازجدول تجزیه واریانس می توان بیان کرد که اثر زمان دم آوری در سطح احتمال ۵ درصد و همچنین اثر فصول مختلف برداشت در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار بود. از آنجایی که ترکیب پلی فنول های چای اهمیت ویژه ای در خواص مربوط به سلامتی دم کرده چای سبز دارد می توان این گونه نتیجه گیری نمود که میزان این ترکیب درچای سبز تهیه شده از برگ های حاصل از برداشت در فصول مختلف سال متفاوت است همچنین مدت زمان دم آوری چای نیز در میزان حضور این ترکیبات در دم کرده چای موثر است اما در این بین دمای دم آوری بر مقدار کل پلی فنول های عصاره اثر معنا داری نداشت. همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود عصاره حاصل از دم آوری در مدت ۱۵ دقیقه با میانگین ۳۷/۱ بیشترین مقدار کل پلی فنول را داراست و به طور معنا داری بیشتر از مدت زمان دم آوری ۵ دقیقه با میانگین ۳۳/۲۹۶ و مدت زمان دم آوری در ۱۰ دقیقه با میانگین۳۳/۰۷ می باشد.



شکل ۲- مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز دم آوری شده در زمان های مختلف

لازم به ذکر است که در مدت زمان دم آوری در مدت زمان ۵ و۱۰ دقیقه اختلاف معنی داری وجود ندارد. به نظر می رسد عمده استخراج کاتچین ها بعد از گذشت مدت زمان دم آوری ۱۰ دقیقه انجام می گیرد و میزان کاتچین استخراج شده در زمان های دم آوری کم تر از ۱۰ دقیقه چندان تفاوتی با هم نمی کنند.به طور دقیق تر در مدت زمان کم تر از ۵ دقیقه عمده کاتچین هایی با وزن مولکولی کم مانند اپی کاتچین (EC) و اپی گالو کاتچین (EGC) و مقداری از کاتچین های دیگر استخراج می شوند و در مدت زمان دم آوری تا ۱۰ دقیقه کاتچین های بیشتری استخراج نمی شوند اما در زمان های دم آوری بیشتر کاتچین هایی با وزن مولکولی بیشتر مانند اپی کاتچین گالات(ECG) و اپی گالو کاتچین گالات (EGCG) نیز به ترکیبات استخراج شده درمرحله قبل اضافه می شوند(خصوصا ترکیب EGCG که در بین کانچین های چای بیشترین مقدار را داراست) و افزایش قابل ملاحظه ای در مقدار کل کاتچین ها مشاهده می شود (Price et al.,1994). پرایس و اسپیتزر (Sharma et al.,2005) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که سرعت خروج فلاوانول های بدون گالات بیشتر از فلاوانول های با گروه گالات می باشد. به نظر می رسد تفاوت در وزن مولکولی کاتچین ها عامل اصلی در وابستگی آنها به زمان دم آوری باشد. به نحوی که در ابتدای دم آوری کاتچین های با وزن مولکولی کم وارد فاز محلول می شوند و با گذشت زمان بیشتر کاتچین های با وزن مولکولی بیشتر استخراج می شوند. بازینت و همکاران (Bazinet etal.,2007) نیز نتایج مشابه ای را گزارش کردند.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز تهیه شده در فصول مختلف برداشت (شکل ۳) نشان می دهد که عصاره حاصل از چای سبز برداشت شده در فصل تابستان با دارا بودن میانگین ۳۷/۶۹۶ بیشترین مقدار پلی فنول را داراست. مقدار پلی فنول موجود در عصاره چای حاصل از برداشت در فصل بهار نیز با میانگین پلی فنول ۳۵ به طور معناداری بیشتر از میانگین مقدار کل پلی فنول حاصل از برداشت در فصل پاییز با میانگین ۳۰/۷۷۹ می باشد اما با مقدار پلی فنول عصاره حاصل از برداشت در فصل تابستان اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.



شکل ۳-مقایسه میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز تهیه شده در فصول مختلف برداشت

Archive of SID

www.SID.ir

به نظر می رسد دمای هوا و همچنین میزان دریافت نور خورشید عامل مهمی در ایجاد اختلاف معنی دار در مقدار کل پلی فنول عصاره حاصل از برداشت چای در فصل تابستان و بهار با مقدار آن در برداشت چای در فصل پاییز باشد. تولید کاتچین ها در گیاه چای با شدت نور افزایش و با سایه کاهش می یابد. این پدیده به فعالیت فنیل آلانین– آمونیا لیاز که آنزیم کلیدی در بیوسنتز حلقه B کاتچین می باشد بستگی دارد. وقتی که گیاه در پوشش قرار میگیرد (دور از نور) این آنزیم به شدت کاهش می یابد. بیوسنتز کاتچین ها همچین با افزایش دما افزایش می یابد (Hara., 2001). کوماموتو و سوندا (Kumamoto et al.,1998) اعلام کردند که میزان کاتچین ها در برگ چای ثابت نیست و از فصلی به فصل دیگر فرق می کند و بوته چایی که در معرض نور بیشتری قرار گیرند کاتچین های بیشتری در برگ های آن ساخته می شود. قوی ترین آنتی اکسیدان طبیعی را فلاونوئیدها تشکیل می دهند، که آنها نیز در اثر فتوسنتز بوجود می آیند (Hara., 2001). بنابراین می توان نتیجه گیری نمود که میزان نور خورشید که یک عامل مهم در میزان فتوسنتز است می تواند تاثیر بسزایی در تولید کاتچین های چای داشته باشد.

نتیجه گیری

از نظر بررسی مقدار کل پلی فنول ها با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد مقدار کل پلی فنول های چای تأثیر پذیری زیادی از فصل برداشت دارند و بیشترین مقدار آن در فصل تابستان که میزان تابش خورشید بیشتر است در برگ ها شکل می گیرد و متعاقباً در چای سبز حاصل از آن وجود دارد همچنین افزایش مدت زمان دم آوری موجبات خروج بیشتر این ترکیب را فراهم می سازد . اگر چه نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می دهد که دمای دم آوری بر مقدار کل پلی فنول چای سبز دم آوری شده تاثیری ندارد اما دما می تواند عامل مهمی در استخراج این ترکیب از نمونه چای به فاز محلول باشد وصحت آن نیز در میانگین مقدار کل پلی فنول چای سبز حاصل از دم آوری در دماهای مختلف که با افزایش دما روند افزایشی را نشان می دهد به اثبات می رسد. در این بین عصاره حاصل از دم آوری در دمای ۸۰ c° افزایش مقدار کل پلی فنول مشخصی را نشان می دهد اما این اختلاف معنی دار نیست. احتمالاً اثر دما در مقادیر بیش از ۷۰°c می تواند در استخراج بیشتر کاتچین ها خصوصاً EGCG موثر باشد. در مجموع می توان بیان کرد که بیشترین مقدار کاتچین ها در عصاره حاصل از دم آوری نمونه حاصل از برداشت در فصل تابستان و دم آوری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۰ c° وجود دارد.

منابع

Banon, S., Diaz, P., Rodriguez, M., Garrido, M. D & Price, A., 2007, Ascorbate, green tea and grape seed extracts increase the shelf life of low sulphite beef patties. Meat Science.

Bazinet, B., Labbe, D & Tremblay A., 2007, Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure. Separation and Purification Technology، 56: 53–56.

Hara, Y., 2001. Green tea health benefits and applications. Marcel Dekker Inc، New York.

ISO/FDIS 14502-1., 2004, Determination of substances characteristic of green and black tea. Part 1

Kumamoto, M & Sonda, T., 1998, Evaluation of the antioxidative activity of tea by an oxygen electrode method, Bioscience Biotechnology Biochemistry. 62: 175–177.

Kumudavally, K. V., Phanindrakumar, H. S., Tabassum, A., Radhakrishna, K & Bawa, A. S., 2007, Green tea – A potential preservative for extending the shelf life of fresh mutton at ambient temperature (25+2˚C). Food Chemistry.

Labbe, D., Tremblay, A & Bazinet, L., 2006. Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions.Separation and Purification Technology، 49:1-9.

Lin, M. L., 2004, How to Brew and Taste Tea, Taiwan Tea Research and Extension Station, Taoyuan, Taiwan (in Chinese).

Price, W. E & Spitzer J. C., 1994, The kinetics of extraction of individual flavanols and caffeine from a Japanese green tea (Sen Cha Uji Tsuyu) as a function of temperature. Food Chemistry 50: 19–23.

Rusak، G. Komes ،D. Likić ،S . Horžić ،D. Kovač ،M. (2006). Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. Food Chemistry.

Sharma, V., Gulati, A & Ravindranath, S. D., 2005, Extractability of tea catechins as a function of manufacture procedure and temperature of infusion. Food Chemistry، 93: 141–148.

Tea institute of Chinese academy of agricultural sciences., 1983, Experiment hand book of tea tree physiology and tea leaves biochemistry. Press of Chinese agriculture،Beijing ،China.

Wang, H & Helliwell, K., 2000, Epimerisation of catechins in green tea infusions. Food Chemistry،70: 337-344.

Yusuf, N., Irby, C., Katiyar S. K & Elmets, C. A., 2007, Photoprotective effects of green tea polyphenols. Photodermatol Photoimmunol Photomed،23: 48–56.

Archive of SID

www.SID.ir